

DB22

吉 林 省 地 方 标 准

DB 22/T 2623.1—2017

黑木耳菌种区别性及真实性鉴定 第 1 部分：对峙培养法

Verification of distinctness and genuineness for Black wood ear

Part 1: Confront culture

2017 - 06 - 12 发布

2017 - 08 - 12 实施

吉林省质量技术监督局 发布

本标准仅供内部使用 不得翻印

本标准仅供内部使用 不得翻印

前 言

《黑木耳菌种区别性及真实性鉴定》分为以下3个部分：

- DB22/T 2623.1 黑木耳菌种区别性及真实性鉴定 第1部分 对峙培养法
- DB22/T 2623.2 黑木耳菌种区别性及真实性鉴定 第2部分 酯酶同工酶法
- DB22/T 2623.3 黑木耳菌种区别性及真实性鉴定 第3部分 SRAP法

本部分为第1部分：对峙培养法。

本标准按照GB/T 1.1—2009和GB/T 20001.4—2015给出的规则起草。

本标准由吉林省农业委员会提出并归口。

本标准起草单位：吉林农业大学、吉林省海外农业投资开发集团有限公司。

本标准主要起草人：姚方杰、张友民、方明、陈影、鲁丽鑫、王鹏、姚允武、于娅、刘宏宇、李丹、王晓娥、陈艳秋、刘迪、张伟彤、孔祥会、马晓旭、张媛媛、李玉。

本标准仅供内部使用 不得翻印

本标准仅供内部使用 不得翻印

黑木耳菌种区别性及真实性鉴定 第1部分：对峙培养法

1 范围

本标准规定了黑木耳菌种区别性对峙培养法的原理、试剂和材料、仪器设备、样品、试验步骤、试验数据处理。

本标准适用于黑木耳菌种区别性鉴定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 1845 食用菌菌种区别性鉴定 拮抗反应

3 术语和定义

NY/T 1845界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用，以下重复列出了NY/T 1845中的某些术语和定义。

3.1

黑木耳 *Auricularia heimuer*

木耳科，子实体胶质，朵型分为菊花型或簇生型，耳片黑色、褐色、灰色，子实层光滑或有褶皱。

3.2

菌种区别性 distinctness of spawn

供检菌种和对照菌种的不符合性。

[NY/T 1845, 定义3.1]

3.3

隆起型 ridgy

对峙培养的黑木耳菌株间拮抗表现特征之一，表现为两菌株菌落交界处菌丝隆起。

[NY/T 1845, 定义3.2]

3.4

沟壑型 chimb

对峙培养的黑木耳菌株间拮抗表现特征之一，表现为两菌株菌丝在交界处分别密集或稍微隆起，两隆起之间出现一条沟壑状分隔线。

3.5

色线型 color bar

对峙培养的黑木耳菌株间拮抗表现特征之一，表现为两菌株菌落交界处形成一条色素分界线。

3.6

隔离型 dividing line

对峙培养的黑木耳菌株间拮抗表现特征之一，表现为两菌株菌落交界出现一条无菌丝的带状分隔区。

4 原理

两个不同的菌株对峙培养时发生拮抗反应，是黑木耳菌株识别异己保持群体遗传多样性的反应，它是由基因组内异核体不亲和位点控制的。当不亲和的两个菌株对峙培养时，在菌株交界处形成隆起、沟壑、色线或隔离，产生拮抗，防止遗传上明显不同的个体间菌丝融合，以保持个体遗传上的独立和稳定。

5 试剂和材料

培养基：马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）（参见附录 A）。

6 仪器设备

6.1 生化恒温培养箱：精度 $\pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

6.2 分析天平：感量 0.01 g 。

7 菌丝体培养

供检黑木耳菌株与对照菌株在相同条件下培养，将固体菌种从试管斜面接种到直径 90 mm 固体PDA平板上， $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光培养 15 d 。

8 试验步骤

8.1 接种组合与重复次数

黑木耳供检菌株与对照菌株的拮抗反应接种组合为3组，每组重复3次。第一组：供检菌株与对照菌株对峙培养；第二组：供检菌株与供检菌株对峙培养；第三组：对照菌株与对照菌株对峙培养。

8.2 接种操作

严格按无菌操作，用 $\phi 5\text{ mm}$ 打孔器分别打取活化后适龄的黑木耳供检菌株与对照菌株菌落边缘做接种块，菌丝朝上，两接种块间隔 30 mm ，置于平板中心位置。

8.3 培养条件

在通风、避光、温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下培养至接种块菌丝接触，需 $20\text{ d}\sim 25\text{ d}$ 。

9 试验数据处理

在自然光下，观察对峙培养的两株菌落交界处菌丝，有隆起型、沟壑型、色线型、隔离型四者之一的拮抗反应，判定为不同菌株。

附 录 A
(规范性附录)
培养基制备

A.1 固体培养基(PDA):

马铃薯200 g(用浸出汁), 葡萄糖20 g, 琼脂20 g, 去离子水或相当纯度的水1000 mL, pH自然。
